

Atrazine herbicide removal through a combination of slow sand filtration and granular activated carbon filters

**Josiela Zanini¹, William Deodato Isique¹, Alessandro Minillo²,
Sérgio Luís de Carvalho¹, Edson Pereira Tangerino¹,
Juliana Heloisa Pinê Américo¹, Iván Andrés Sánchez Ortiz^{3*}**

¹Facultad de Ingeniería de Ilha Solteira (FEIS),
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), São Paulo, Brasil.

²Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

³Departamento de Recursos Hidrobiológicos, Universidad de Nariño, Ciudad Universitaria-Torobajo. Pasto, Nariño, Colombia. Tel: (032)7311449. *iaso@udenar.edu.co

Abstract

The increased contamination of watercourses by pesticides along with better knowledge of the harmful properties of these pollutants, have increased the interest on the removal of these compounds during treatment of drinking water. Since pesticides consisting of biologically active molecules and hard to remove by conventional water treatment, the use of slow sand filters followed by activated carbon filters may represent an efficient system for water treatment. Considering these aspects, this study aimed to evaluate the efficiency of slow sand filtration and filtration using granular activated carbon (GAC) in the removal of the herbicide atrazine in bench scale and the determination of phenotypic and genotypic composition of the microorganisms involved in this herbicide degradation. The average removal efficiency of atrazine was 97.3% and the registered concentrations on final effluent were lower than the 2 µg/L permitted by Brazilian legislation for drinking water (Decree no. 518, of march 25 2004), enabling the use of the adopted system in the removal of the evaluated pesticide, ensuring the water quality for its distribution and human consumption.

Keywords: atrazine, sand filters, activated carbon, water treatment, drinking water.

Remoción del herbicida atrazina utilizando la combinación de filtros lentos de arena y filtros con carbón activado granular

Resumen

El aumento de la contaminación de cuerpos hídricos por pesticidas junto con el mejor conocimiento de las propiedades nocivas de esos contaminantes, han incrementado el interés en la remoción de dichos compuestos durante el tratamiento de agua potable. Ya que los pesticidas están constituidos por moléculas biológicamente activas y de difícil remoción mediante el proceso convencional de tratamiento de agua, el uso de filtros lentos de arena seguidos por filtros de carbón activado puede representar un sistema eficiente en el tratamiento del agua. Considerando estos aspectos, el presente estudio tuvo como objetivos evaluar la eficiencia de la filtración lenta y la filtración utilizando carbón activado granular (CAG) en la remoción del herbicida atrazina en escala de laboratorio y determinar la composición fenotípica y genotípica de los microorganismos asociados a la degradación del herbicida. La eficiencia media en la remoción de atrazina fue

del 97,3% y las concentraciones registradas en el efluente final durante el 97% del tiempo fueron menores a los 2 $\mu\text{g/L}$ permitidos como valor máximo por la legislación Brasileira para agua potable (Decreto no. 518, de marzo 25 de 2004), posibilitando el uso del sistema adoptado en la remoción del pesticida, asegurando la calidad del líquido para su distribución y consumo humano.

Palabras clave: atrazina, filtros de arena, carbón activado, tratamiento de agua, agua potable.

1. Introducción

Las actividades domésticas y comerciales contribuyen con productos químicos sintéticos orgánicos a las descargas de aguas residuales, corrientes agrícolas, corrientes urbanas y lixiviados de tierras vegetales contaminadas [1]. Por su parte, la aplicación de pesticidas en la agricultura ha generado graves problemas, como la contaminación de aguas superficiales, subterráneas y manantiales utilizados en el abastecimiento de agua potable, lo que se constituye en un grave problema para las autoridades responsables por la preservación del ambiente. La inadecuada disposición en la naturaleza de tales compuestos tiende a aumentar y acumular la concentración de los mismos en el suelo y el agua, convirtiéndolos en compuestos tóxicos para los seres vivos y para el ser humano cuando alcanzan las fuentes hídricas destinadas al abastecimiento urbano [2-4]. Según AWWA y col. [5], las reglamentaciones sobre productos químicos orgánicos de síntesis, especialmente pesticidas, han sido factores importantes para considerar a los procesos de membrana como opciones de tratamiento, especialmente en la Unión Europea y Estados Unidos; muy a pesar de la eficiencia de dicha tecnología, los procesos de membrana no siempre se encuentran al alcance de los países subdesarrollados. Con base en lo anterior, el desarrollo de un tratamiento eficaz y de bajo costo en la remoción de estos contaminantes se convierte en un importante desafío a ser superado [6]. La filtración lenta involucra como parte de sus procesos de funcionamiento la degradación biológica y química de diferentes elementos presentes en el agua bruta, reduciendo la materia orgánica a formas más simples; según Arboleda [7], en el caso particular de algunos pesticidas y herbicidas los filtros lentos de arena pueden reportar remociones desde el 50 hasta más del 99%. Para la formación de la capa biológica, la retención de organismos en la fracción superior del medio filtrante puede perdurar por semanas, es la actividad biológica, uno de los procesos más

importantes que ocurre en la filtración lenta, que actúa en la superficie del medio granular, donde ocurre la formación de dicha capa biológica [8, 9]. Para la remoción de pesticidas con alta solubilidad, se hace necesaria la aplicación de un proceso complementario, como el uso capas de carbón activado (granular o en polvo), asegurando un aumento de la eficiencia en la remoción de estos compuestos tal como lo reporta AWWA [1]. En casos en que el carbón presente una capa biológica en su superficie, la biodegradación se convierte en un proceso complementario en el tratamiento y remoción de pesticidas en aguas residuales y de abastecimiento público [3, 4].

La atrazina es un herbicida ampliamente utilizado en Brasil para el control de hierbas dañinas y gramíneas, caracterizado como medianamente tóxico y de difícil degradación, pudiendo estar asociado con la contaminación ambiental [10-12]. Dentro de las diversas tecnologías disponibles para su remoción del agua, está la degradación química, la adsorción sobre carbón activado, la fitoremediación y la mineralización de la atrazina a través de la biodegradación [3]. La acción de microorganismos puede ejercer una vía activa en la biodegradación de contaminantes presentes en el agua y en suelos contaminados. Dentro de los microorganismos reportados en la literatura se encuentran géneros como *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Proteus*, *Bacillus*, *Candida* y *Achromobacter*, los cuales se describen como capaces de utilizar una serie de productos químicos toxigénicos como fuente complementaria de carbono y energía para su crecimiento [13]. Como ejemplo de ésta posibilidad se ha descrito el uso de bacterias aisladas (*Pseudomonas*, *Nocardia* y *Agrobacterium radiobacter*) que utilizan atrazina como fuente exclusiva de carbono y nitrógeno [3]. Considerando estos aspectos, el presente estudio evaluó la eficiencia de filtración lenta y de la filtración utilizando carbón activado granular (CAG) en la remoción de atrazina en escala de laboratorio, así como la identificación fenotípica y genotípica

de los microorganismos asociados a la degradación de dicho herbicida.

2. Parte experimental

Para la realización del estudio, se instalaron dos filtros lentos (FL1 y FL2), construidos en tubos de PVC con iguales características geométricas: 100 mm de diámetro y 2.000 mm de altura, lecho de arena con granulometría entre 0,8 y 1,0 mm, coeficiente de uniformidad entre 2 y 3 y tamaño efectivo de 0,25 mm. La capa soporte, o base del filtro, estuvo constituida por cuatro capas de 75 mm con sus respectivas variaciones granulométricas, iniciando desde la capa inferior así: 15,9 a 23,4 mm; 7,9 a 12,7 mm; 3,2 a 6,4 mm y 1,4 a 3,2 mm. Posteriores a los filtros lentos, se colocaron dos filtros de carbón (FC1 y FC2), construidos también en tubos de PVC y con lecho de carbón activado granular de origen vegetal (cáscara de coco), cada uno con una capa de carbón de 5 cm, con granulometría entre 0,350 y 0,500 mm, y una capa soporte de gravilla de 17 cm (Figura 1).

Durante los primeros 25 días del experimento, los filtros del sistema fueron alimentados con agua proveniente del arroyo "Córrego sem nome", localizado en el perímetro urbano del municipio de Ilha Solteira, región Noroeste del Estado de São Paulo; dicha agua se utilizó únicamente con el fin de madurar los filtros pues al registrar valores promedio de color aparente de 127 uH, color verdadero de 25 uH y turbiedad de 18 uT, sus características no se ajustaban a los límites requeridos para aplicación de la filtración lenta. El agua de estudio utilizada se colectó en un reservorio en el Barrio Ipê de Ilha Solteira, en su caracte-

rización preliminar reportó valores medios de color aparente de 23 uH, color verdadero de 4 uH y turbiedad de 3 uT.

Al agua de Ipê se le agregó una solución acuosa con atrazina, la mezcla fue acondicionada en un tanque reservorio y se bombeó de manera continua hacia una caja de nivel variable, para pasar por gravedad por los FL y FC, con un caudal de $2,93 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{d}$. El herbicida fue continuamente transferido hacia los filtros lentos de arena y mezclado con el agua de estudio de tal forma que se obtuvo una concentración de atrazina final cercana a los $30 \text{ } \mu\text{g}/\text{L}$. El agua que pasó por el sistema de filtración se acumuló en un reservorio para su almacenamiento temporal y su descarte final.

El experimento tuvo una duración de 16 semanas. Las muestras se colectaron en 3 puntos distintos, localizados a la entrada de los filtros lentos (Afluente Bruto-AB₁), entrada de los filtros de carbón (Efluente Filtros Lentos-EFL₁) y la salida de los filtros de carbón (Efluente Filtros de Carbón-FC₁). Se realizaron análisis diarios de pH, temperatura, oxígeno disuelto, color aparente y turbiedad, mientras que los parámetros concentración de atrazina y color verdadero se realizaron semanalmente.

La atrazina se cuantificó, utilizando un cromatógrafo líquido de alta eficiencia (Shimadzu), equipado con detector "Photodiode Array" (SPD-M20A), dos bombas de alta presión (LC-20AT y LC 20AD), en columna de fase reversa C-18 (modelo Shim-pack), con $4,6 \times 250 \text{ mm}$ y diámetro de partícula de $5 \text{ } \mu\text{m}$, según la metodología descrita por Talebpour y Bijanzadeh [14], con adaptaciones. La fase móvil fue constituida por metanol

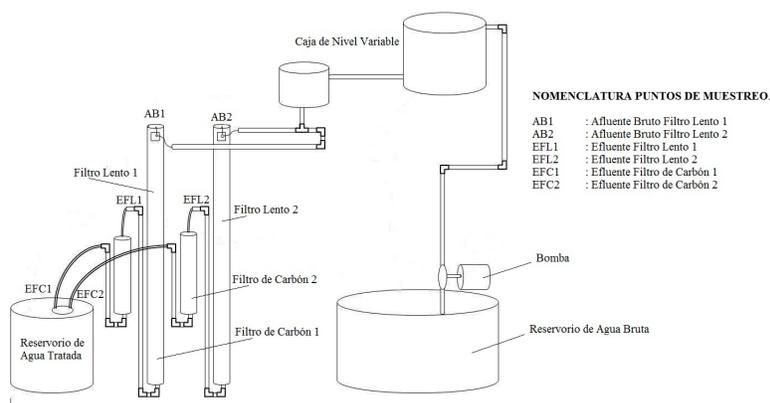


Figura 1. Esquema representativo de la instalación experimental utilizada.

y agua, el análisis se realizó en sistema isocrático y la longitud de onda seleccionada fue de 255 nm. El flujo utilizado fue de 1 mL/min y un tiempo de corrida de 18 minutos para cada muestra analizada, por triplicado.

Para determinar las características de los microorganismos presentes en los FL y los FC se tomaron muestras de agua (30 mL) de sus efluentes. El aislamiento se realizó en medio PCA (5,0 g/L de peptona, 2,5 g/L de extracto de levadura, 1,0 g/L de glucosa y 20 g/L de Agar). El volumen líquido muestreado –conteniendo los microorganismos– se homogenizó y 200 μ L de éste se transfirieron a placas de Petri con el medio nutriente aumentado de una alícuota (100 μ L) de solución atrazina (20 μ L), donde la muestra se distribuyó con asas de Drigalski; las placas se incubaron a una temperatura cercana a la observada en los filtros. Las colonias aisladas se sometieron a sucesivos plaqueamientos, y se transfirieron a tubos de ensayo conteniendo agar nutriente y refrigeradas a 5°C.

Para cada colonia aislada se observaron características morfológicas, coloración diferencial de Gram, y verificación de la formación de esporas utilizando colorante verde de malaquita, para obtener informaciones de los posibles grupos microbianos presentes en los filtros, posteriormente se realizaron producciones masivas de cada aislado, para extracción del DNA y su identificación filogenética.

Para la extracción del DNA de los microorganismos aislados se utilizó el *Kit FastDNA® SPIN Kit for Soil* (BIO 101-Quantum Biotechnologies). El material genético se usó en la amplificación, por PCR, del gen 16S rRNA. En la reacción se usaron los oligonucleótidos iniciadores fd1 (posición 8-27) y rD1 (posición 1524-1540) del gen 16S rRNA en *Escherichia coli* estirpe K12 y las condiciones incrementadas de modificaciones: Tampón PCR 1X [20 mM Tris-HCl (pH 8,4), 50mM KCl], 200 μ M de cada dntp, 2 mM de MgCl₂, 1,25 U de Taq Polimerasa, 5 pmols de cada iniciador, 35 ng de DNA y agua ultra pura completando 50 μ L en la reacción. Se utilizó un termociclador (MJ Research Inc., modelo PTC-200) ajustado con programación de: 94°C por 2 min, 35 ciclos a 94°C por 30 s, 55°C por 50 s, 72°C por 2 min y 72°C por 5 min. Los *amplicons* generados se confirmaron por electroforesis en gel de agarosa 1% con

0,5 mg/L de bromuro de etidio, tampón TBE (Tris 89 mM; Ácido Bórico 89 mM y EDTA 2,5 mM, pH 8,3) y visualizado en un fotodocumentador (Gel Doc 1000) con luz UV (Bio Rad, USA). Los productos de PCR del gen 16S rRNA se secuenciaron usando 0,5 μ L de DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit (GE Healthcare); 5 pmols de oligonucleótido iniciador fd1; 150 ng de DNA en 10 μ L. Las condiciones en el termociclador fueron: 2 min a 95°C, 40 ciclos de 95°C por 30 s, 55°C por 15 s, 60°C por 2 min. Los *amplicons* se secuenciaron con secuenciador capilar modelo ABI 3700 (Applied Biosystems).

Las secuencias se analizaron con los programas *Sequencing Analysis 3.4* y *Phred/Phrap* y se compararon con el banco de datos de genes ribosomales *Ribosomal Database Project II* (RDP II), mediante el programa *Classifier*. En seguida, éstas fueron alineadas con el programa *ClustalX 1.83*. El árbol filogenético se construyó con el programa *Mega 4* usando el algoritmo del vecino más cercano *neighbor-joining* y el modelo de sustitución de nucleótido Kimura 2-P.

3. Resultados y discusión

3.1. pH y temperatura

La temperatura promedio registrada fue de 26,4°C y el pH varió entre 6,85 y 7,6 (Tabla 1). Los valores de pH cercanos a la neutralidad pudieron propiciar el desarrollo de la capa biológica, pues el pH ejerce un efecto importante en el metabolismo microbiano; además de afectar las propiedades superficiales de los microorganismos y de las superficies sólidas, puede causar aumento o disminución de la repulsión electrostática entre los dos, interfiriendo así en el proceso de adhesión de los microorganismos a éstas. Además, la temperatura es un factor que influencia el desarrollo del biofilm y de los organismos que lo componen, debiendo permanecer cercana a los 25°C [15].

3.2. Oxígeno disuelto (OD)

Las concentraciones de OD no variaron mucho a lo largo del período de estudio, cabe destacar que en el EFC los valores del oxígeno fueron muy inferiores a los registrados en el EFL. Según Coelho [8], la reducción del OD pudo haber ocu-

ruido por la actividad microbiana existente en los medios filtrantes. La Tabla 1 presenta los valores medios registrados en el AB y las muestras de agua tratada.

3.3. Color aparente

Durante la operación de los FL y FC, el color aparente presentó reducciones en sus niveles, reportando remociones de hasta 90% y 91% en el FL1 y el FL2 respectivamente y cercanos al 100% en el FC1 y FC2. El 97% y 99% de los valores de color aparente en los efluentes de los FL1 y FL2, fueron menores a 15 uH, atendiendo así la norma de potabilidad brasilera [16]. Coelho [8], quien utilizó tecnología FiME con FL de arena y FL con capa intermedia de CAG, no obtuvo disminución significativa de color aparente en los efluentes de los filtros, con solamente 5% de los valores por debajo de 15 uH. La Tabla 1 presenta los valores medios en el AB y los efluentes de los FL y FC.

3.4. Color verdadero

Las características del AB, en términos de color verdadero obedecieron a los valores recomendados para aplicación de la tecnología de filtración lenta (95% de los valores inferiores a 10 uH). El análisis de color verdadero presentó valores cada vez menores a lo largo de la operación de los filtros, con remociones cercanas al 100% en todos los filtros (Tabla 1). Todos los valores en los efluentes del FL1, FL2, FC1 y FC2 fueron menores a 5 uH, atendiendo la norma de potabilidad [16]. Estos resultados superaron de manera importante los reportados por Coelho [8], cuyas eficiencias variaron entre 30 y 68%, donde el FL con capa de carbón presentó el efluente de mejor calidad.

3.5. Turbiedad

El AB1 presentó turbiedades entre 0,72 y 10,9 uT, con 99% de los valores menores a 10 uT; en el AB2, los valores variaron entre 0,66 y 12,8 uT, con 98% de ellos inferiores a 10 uT. El efluente del FL1 registró turbiedades entre 0,19 y 1,4 uT; en el FL2 los valores variaron entre 0,23 y 1,2 uT. En el FC1 los valores en el efluente oscilaron entre 0,11 y 1,4 uT, mientras que en el FC2 variaron entre 0,11 y 1,1 uT; en ambos casos, 100% de los valores fueron menores a 2 uT. Coelho [8], reportó valores más elevados de turbiedad en el efluente del FL (16% menor de 5 uT) y del FL con capa intermedia de carbón (32% por debajo de 5 uT); aunque cabe mencionar que la turbiedad del AB también fue mayor, variando entre 14,0 y 24,3 uT. Los valores medios de turbiedad se presentan en la Tabla 1.

3.6. Remoción de atrazina

Los FL pasaron por un período de maduración de nueve semanas, para promover la formación de la capa biológica. La primera colecta se realizó 1 semana después de la primera aplicación del herbicida. Las concentraciones medias de atrazina calculadas en la línea de tratamiento 1 fueron de 26,66 $\mu\text{g/L}$ en el AB1, 2,43 $\mu\text{g/L}$ en EFL1 y 0,70 $\mu\text{g/L}$ en EFC1; en la línea 2 fueron de 28,46 $\mu\text{g/L}$ en el AB2, 2,46 $\mu\text{g/L}$ en EFL2 y 0,30 $\mu\text{g/L}$ en EFC2. Las concentraciones en el AB1 oscilaron entre 13,52 y 35,43 $\mu\text{g/L}$ y entre 16,77 y 40,99 $\mu\text{g/L}$ en el AB2; los valores registrados durante el experimento en los AB y los efluentes de los FL y FC se presentan en la Figura 2A, en la que se incluyó para efectos de comparación gráfica el valor del límite máximo permitido (LMP) por la legislación brasilera.

Tabla 1

Valores medios encontrados para oxígeno disuelto, color aparente, color verdadero, turbiedad, temperatura y pH en los puntos de colecta

Parámetros	AB1	EFL1	EFC1	AB2	EFL2	EFC2
OD (mg/L)	5,77	5,31	4,53	5,62	5,42	4,62
Color aparente (uH)	23,00	6,00	2,00	23,00	6,00	3,00
Color verdadero (uH)	1,75	0,93	0,31	2,06	1,00	0,62
Turbiedad (uT)	3,03	0,75	0,40	3,06	0,58	0,43
Temperatura (°C)	26,70	26,40	26,20	26,70	26,50	26,00
pH	7,29	7,30	7,25	7,27	7,24	7,27

El FL1 presentó una eficiencia de remoción de atrazina entre 73,8 y el 97,7%, el FL2 reportó eficiencias de remoción entre 83,2 y el 98,7%; los efluentes de ambos filtros registraron algunas concentraciones medidas que superaron el valor máximo permisible de $2 \mu\text{g/L}$ exigido por la norma brasilera de agua potable [16]. Las máximas concentraciones en EFC1 y EFC2 fueron de 2,59 y $1,83 \mu\text{g/L}$, respectivamente, ello indicó la adaptación de los microorganismos adheridos al lecho de FC1 y FC2 y reportó una maduración satisfactoria para la remoción de atrazina.

Los resultados obtenidos mostraron que el CAG continuó removiendo el compuesto, después de 113 días de operación continua desde la primera aplicación de atrazina, presentando 97% de los valores de concentración del herbicida por debajo de los $2 \mu\text{g/L}$ permitidos por la norma brasilera y 100% por debajo de los $3 \mu\text{g/L}$ definidos por la USEPA [17]. Los porcentajes de remoción total de atrazina en los FL y FC, se presentan en la Figura 2B.

Las eficiencias medias de remoción total de 97,3% en los filtros FL1-FC1 y de 98,8% en los filtros FL2-FC2 mostraron que el sistema evaluado presentó alto desempeño en la remoción del herbicida, mayores a las reportadas por Coelho [8], quien para concentraciones afluentes menores a $20 \mu\text{g/L}$ obtuvo eficiencias entre 34 y 88% en el FL y valores menores a $2,0 \mu\text{g/L}$ en el efluente del FL con CAG. Como se observa en la Figura 2, en los FC durante el periodo experimental tendió a disminuir la eficiencia de remoción, probablemente debido al agotamiento de la capacidad de adsorción del CAG.

Las eficiencias de remoción obtenidas mediante el sistema evaluado confirman lo reportado por estudios que sugieren ventajas en la utilización de procesos como la filtración lenta y la filtración por CAG para remoción de microcontaminantes orgánicos, e indican que la adsorción en carbón activado es la técnica más adecuada para remoción de atrazina del agua destinada al consumo humano, mientras que la biodegradación es la más satisfactoria para su remoción de aguas residuales [8, 3, 17, 18]. Entre los procesos de remoción biológica, el carbón activado es el método más común pues puede usarse con sistemas convencionales de tratamiento de agua, sin inversión de capital adicional significativa [17].

3.7. Análisis microbiológico bacteriano

En la presente investigación se encontraron e identificaron bacterias tanto en los FL como en los FC del sistema evaluado. Camper y col. [19] encontraron bacterias heterotróficas en 41,4% de las muestras de partículas liberadas por lechos de CAG en filtros que trataron agua potable por 12 meses.

En esta investigación, el análisis microbiológico del material colectado de los filtros lentos y los filtros de carbón presentó elevada colonización bacteriana, con variadas características en cuanto a la coloración, tamaño y tipo de borde. Se constató el dominio para el grupo de bacterias con formato coco-bastones y bastones, en su totalidad las bacterias fueron gram-positivas (Tabla 2).

Con base en la Tabla 2 se evidenció la presencia de microorganismos adheridos en el lecho filtrante de carbón, lo que podría representar una

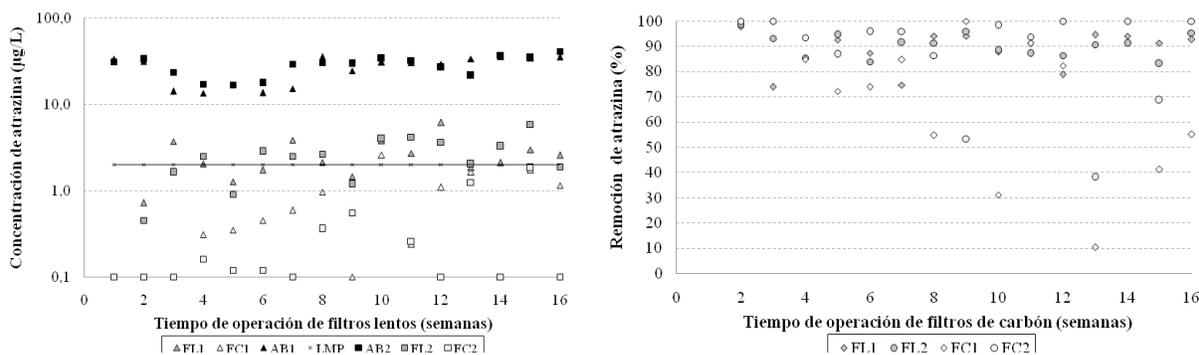


Figura 2. Concentraciones de atrazina registradas durante el experimento en los AB, FL y FC (Figura 2A); Porcentajes de remoción de atrazina en los FL y FC (Figura 2B).

Tabla 2
Características fenotípicas y genotípicas de la familia y géneros de las bacterias presentes en los filtros lentos y filtros con CAG utilizados durante el ensayo

Aislado	Filtro	Color	Forma	Catalasa	Esporas	Género	Familia
1	FC2	Crema brillante	Coco-bastón	Positiva	Presente	<i>Salirhabdus</i>	Bacillaceae
2	FL2	Crema brillante	Coco-bastón	Negativa	Presente	<i>Bacillus</i>	Bacillaceae
3	FC2	Crema brillante	Coco-bastón	Negativa	Ausente	<i>Bacillus</i>	Bacillaceae
4	FL1	Crema opaca	Coco-bastón	Positiva	Presente	<i>Bacillus</i>	Bacillaceae
5	FC1	Crema opaca	Coco-bastón	Negativa	Presente	<i>Bacillus</i>	Bacillaceae
6	FC2	Blanca brillante	Coco-bastón	Negativa	Presente	<i>Bacillus</i>	Bacillaceae
7	FC1	Crema brillante	Coco-bastón	Negativa	Ausente	<i>Bacillus</i>	Bacillaceae
8	FC1	Crema brillante	Coco-bastón	Positiva	Presente	<i>Bacillus</i>	Bacillaceae
9	FC2	Blanca brillante	Bastón	Negativa	Ausente	<i>Bacillus</i>	Bacillaceae
10	FC2	Marrón brillante	Coco-bastón	Negativa	Ausente	<i>Bacillus</i>	Bacillaceae
11	FC1	Naranja	Coco-bastón	Negativa	Ausente	<i>Bacillus</i>	Bacillaceae
12	FC1	Roja	Coco-bastón	Negativa	Ausente	<i>Salirhabdus</i>	Bacillaceae

optimización en el proceso de tratamiento del agua, permitiendo mayor remoción de elementos contaminantes disueltos en el AB.

A partir del material aislado y cultivado de los filtros FL y FC se obtuvieron bacterias pertenecientes a la familia Bacillaceae, representadas por los géneros *Bacillus* y *Salirhabdus*. La bacteria del género *Salirhabdus* ha sido clasificada como gram-positiva, en formato de bastón y halotolerante, un análisis filogenético de la secuencia del gen 16S rRNA de la bacteria, indicó que este organismo representa un nuevo linaje filogenético en la radiación del género *Bacillus* y géneros afines, estando filogenéticamente más relacionado a especies del género *Salinibacillus* [20].

El uso de los microorganismos para biorremediación y control de contaminantes ambientales es un campo de estudios en crecimiento en la última década. Algunas investigaciones han demostrado el potencial de representantes de géneros tales como *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Proteus*, *Bacillus*, *Candida* y *Achromobacter* en la degradación de contaminantes, por su capacidad de utilizar productos químicos tóxicos como única fuente de carbono y energía para su crecimiento. Zhou y col. [13] describieron una estirpe de bacterias con estas características, denominada *Sinobacter flavus*.

Marecik y col. [21] aislaron microorganismos de la rizosfera de cálamos para evaluar sus

papeles en la degradación de atrazina, registraron hongos y bacterias psicrófilas y mesófilas. Observaron mayor nivel de reducción para hongos (entre el 18 y casi el 60% de la concentración inicial). La remoción por bacterias psicrófilas y mesófilas fue menor al 20%, las menos activas fueron las psicrófilas. Entre los microorganismos más activos estuvieron los géneros *Bacillus*, *Stenotrophomonas* y *Rahnella*.

Feakin y col. [22] analizaron los parámetros de calidad del agua asociados a la inoculación en laboratorio de lechos fijos de CAG con bacterias (SLI: *Rhodococcus rhodochrous*, WTI: *Acinetobacter junii*) capaces de biodegradar atrazina y simazina. Los aislados bacterianos fueron evaluados en cuanto a la capacidad de degradar s-triazinas (1-30 $\mu\text{g/L}$), en la presencia de CAG en aguas superficiales. La inoculación con WTI y SLI redujo significativamente las concentraciones efluentes de los herbicidas.

Se han realizado estudios sobre degradación de pesticidas por microorganismos en sistemas de cultura pura y mixta, las estirpes microbianas pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Xanthomonas* y *Rhodococcus*, han demostrado alta capacidad de degradación de una gran variedad de xenobióticos, incluyendo pesticidas [23]. La biodegradación es un proceso que es probable que resulte de la actividad enzimática, después de una adaptación a los xenobióticos, es-

tos últimos autores aislaron y caracterizaron cepas microbianas con capacidad para remover 9 pesticidas de un lago oligotrófico.

Según los resultados de los investigadores anteriormente referenciados, las bacterias del género *Bacillus*, colonizadoras de la arena y del carbón en los filtros utilizados en el presente estudio, pueden estar directamente relacionadas con la degradación de contaminantes químicos tóxicos, como la atrazina, al utilizarlos como única fuente de carbono para su crecimiento.

Se puede también estudiar, para futura confirmación referente a la degradación de atrazina, otras bacterias pertenecientes a la familia Bacillaceae, como el género *Salirhabdus* encontrado en la presente investigación, pues reportes como López y col. [23], Marecik y col. [21] y Zhou y col. [13] muestran que *Bacillus* sp junto con otras culturas bacterianas pueden mineralizar totalmente la atrazina.

Microorganismos que degradan parcial o totalmente la atrazina han sido aislados y a partir de ellos se caracterizaron los genes que codifican las enzimas involucradas en la degradación de atrazina. Los genes de *Pseudomonas* sp ADP se descubrieron en un par de 108-kb del plásmido auto-transmisible, pADP-1 completamente secuenciado. Existen tres genes de este plásmido que codifican enzimas responsables por la quiebra de la atrazina en ácido cianúrico: (atzA, atzB y atzC) tales están localizados en una región inestable del plásmido. Una región diferente del pADP-1 contiene los genes atzD, atzE y atzF, que codifican enzimas que fragmentan el anillo de la molécula s-triazina de la atrazina y lleva a la conversión de ácido cianúrico con dióxido de carbono y amonio [24].

Con base en los relatos antes citados, pueden realizarse análisis de los genes de *Bacillus* y *Salirhabdus* para identificar la presencia o no de genes responsables por la codificación de enzimas que fragmenten el anillo de la molécula s-triazina de la atrazina, convirtiéndola en ácido úrico.

Vargha y col. [25], construyeron un modelo del río Danubio en escala de laboratorio, donde se evaluó la composición de las comunidades bacterianas y la degradación de atrazina. Para una carga de atrazina aguda, observaron la retención del compuesto en el corto plazo; a largo plazo, una dosis continua de atrazina llevó a su degradación acelerada, donde el principal metabolito fue la hi-

droxi-atrazina. Se aislaron cepas de los sedimentos del río, predominantemente gram-positivas. Se identificaron catorce linajes pertenecientes a los géneros *Rhodococcus* sp, *Microbacterium* sp., *Aerobacterium* sp., *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp, *Deinococcus* sp., *Delftia* sp. y *Pseudomonas* sp.

Como confirmación de la degradación completa de la atrazina por culturas bacterianas mixtas, *Bacillus* y *Salirhabdus* se pueden estudiar junto con bacterias del género *Rhodococcus* sp, que también ha sido reportado en estudios sobre identificación de culturas responsables por su degradación [25].

4. Conclusiones

Al analizar el comportamiento de los filtros estudiados, se observó la contribución secuencial en la remoción de color y turbiedad; por su parte, la reducción de concentraciones de oxígeno disuelto en los FL y FC puede haber ocurrido por su consumo debido a la actividad microbiana presente.

Las bacterias detectadas se identificaron como originarias de una misma familia (Bacillaceae), pertenecientes a dos géneros, *Bacillus* y *Salirhabdus*, los cuales pueden ser futuramente estudiados en experimentos relacionados con la biodegradación de atrazina.

De acuerdo con los resultados, se puede concluir que la filtración lenta seguida por filtros de carbón activado demostró efectividad en la remoción de atrazina. Para las condiciones de la investigación, los resultados sugieren que los valores de atrazina en el efluente de los filtros de carbón atienden las normas de potabilidad establecidos por la USEPA, así como por la legislación Brasileira.

Agradecimientos

A la agencia CAPES por la beca de estudios concedida al autor principal.

Referencias bibliográficas

1. American Water Works Association. Calidad y tratamiento del agua – Manual de suministros de agua comunitaria, McGraw Hill Interamericana, Madrid, 2002, 1231p.

2. Cerejeira, M. J.; Viana, P.; Batista, S.; Pereira, T.; Silva, E.; Valério, M. J.; Silva, A.; Ferreira, M.; Silva-Fernandes, A. M. Pesticides in Portuguese surface and ground Waters. *Water Research*, Vol. 37, (2007) 1055-1063.
3. Ghosh, P. K.; Philip, L. Environmental significance of atrazine in aqueous systems and removal by biological processes: an overview. *Global NEST Journal*, Vol. 8 (2006) 159-178.
4. Mezzari, I. A. Utilização de carvões adsorventes para o tratamento de efluentes contendo pesticidas: Dissertação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina. (2002), 117p.
5. American Water Works Association Research Foundation, Lyonnaise des Eaux, Water Research Commission of South Africa. Tratamiento del agua por procesos de membrana, McGraw Hill Interamericana, Bogotá, 1998. 837 p.
6. Graymore, M.; Stagniti, F.; Allinson, G. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. *Environment International*, Vol. 26, (2001) 483-495.
7. Arboleda, V.J. Teoría y práctica de la purificación del agua. Tercera edición, McGraw Hill Interamericana, Bogotá, 2000. 793 p.
8. Coelho, E.R.C. Influência da pré-oxidação com ozônio e peróxido de hidrogênio na remoção de atrazina em filtros lentos de areia e carvão ativado granular para tratamento de águas de abastecimento: Tese de doutorado em Engenharia Civil com área de concentração em Hidráulica e Saneamento, Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos. (2002), 230p.
9. Sá, J. C. Influência das características da camada filtrante e da taxa de filtração na eficiência da remoção de *Microcystis aeruginosa* e microcistina na filtração lenta em areia. Tese de Doutorado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília. (2006), 186p.
10. Gfrerer, M.; Wenzl, T.; Quan, X.; Platzer, B.; Lankmayr, E. Occurrence of triazines in surface and drinking water of Liaoning Province in Eastern China. *J. Biochem. Biophys. Methods*, Vol. 53, (2002) 217-228.
11. Koneva, N. D. Characterization and In Situ Monitoring of Atrazine-Transforming Bacteria. *Microbiology*, Vol. 73, (2004) 654-657.
12. Nagy, I. N.; Compennolle, F.; Ghys, K.; Vanderleyden, J.; De Mot, R. A Single Cytochrome P-450 System Is Involved in Degradation of the Herbicides EPTC (S-Ethyl Dipropylthiocarbamate) and Atrazine by *Rhodococcus* sp. Strain NI86/21. *Applied and environmental microbiology*, Vol. 61, (1995) 2056-2060.
13. Zhou, Y.-, Zhang, Y.; Zhi, X.; Wang, X.; Dong, J.; Chen, Y.; Lai, R.; Li, W. Description of *Sinobacter flavus* gen. nov., sp. nov., and proposal of Sinobacteraceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 58 (2008) 184-189.
14. Talebpour, Z.; Bijanzadeh, H. R. A selective ¹⁹F NMR spectroscopic method for determination of insecticide diflubenzuron in different media. *Food Chemistry*, Vol. 105, (2007) 1682-1687.
15. Chaves, L.C.D. Estudo da cinética de formação de biofilmes em superfícies em contacto com água potável: Dissertação de mestrado em Engenharia Biológica com área em Tecnologia do Ambiente, Departamento de Engenharia Biológica da Universidade do Minho, Braga. (2004), 156 p.
16. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria no. 518, de 25 de março de 2004: estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília: Diário Oficial da União, Vol. 59, (2004) 266-270.
17. Office of Pesticide Programs Science Policy. The Incorporation of Water Treatment Effects on Pesticide Removal and Transformations in Food Quality Protection Act (FQPA) Drinking Water Assessments. United States Environmental Protection Agency Washington, D.C. 20460, 2001, 50p.
18. Simpson, D.R. Biofilm processes in biologically active carbon water purification. *Water research*, Vol. 42, (2008) 2839-2848.
19. Camper, A. K.; Lechevallier, M. W.; Broadaway, S. C.; Mcfeters, G. A. Bacteria Associated with Granular Activated Carbon Particles in Drink-

- ing Water. Applied and environmental microbiology, Vol. 52 (1986) 434-438.
20. Albuquerque, L.; Tiago, I.; Rainey, F. A.; Tabor-da, M.; Nobre, M. F.; Veríssimo, A.; Costa, M. S. *Salirhabdus euzeyi* gen. nov., sp. nov., a Gram-positive, halotolerant bacterium isolated from a sea salt evaporation pond. *Int J Syst Evol Microbiol*, Vol. 57, (2007) 1566-1571.
 21. Marecick, R.; Krolczak, P.; Czaczyk, K.; Bialas, W.; Olejnik, A.; Cyplik, P. Atrazine degradation by aerobic microorganisms isolated from the rhizosphere of sweet flag (*Acorus calamus L.*). *Biodegradation*, Vol. 19, (2008) 293-301.
 22. Feakin, S. J.; Blackburn, E.; Burns, R. G. Inoculation of granular activated carbon a fixed bed with s-triazine-degrading bacteria as a water treatment process. *Water Res.*, Vol. 29 (1995) 819-825.
 23. López, L.; Pozo, C.; Rodelas, B.; Calvo, C.; Juárez, B.; Martínez-Toledo, M. V.; González-López, J. Identification of Bacteria Isolated from an Oligotrophic Lake with Pesticide Removal Capacities. *Ecotoxicology*, Vol. 14, (2005) 299-312.
 24. Vibber, L. L.; Pressler, M. J.; Colores, G. M. Isolation and characterization of novel atrazine-degrading microorganisms from an agricultural soil. *Appl Microbiol Biot.*, Vol. 75 (2007) 921-928.
 25. Vargha, M.; Takats, Z.; Marialigeti, K. Degradation of atrazine in a laboratory scale model system with Danube river sediment. *Water Res.*, Vol. 39, (2005) 1560-1568.

Recibido el 10 de Febrero de 2013

En forma revisada el 5 de Mayo de 2014